

·综述·

植物药对肠易激综合征肠上皮功能影响的研究进展

刘丽娜, 孙志广, 严 晶(南京中医药大学附属医院, 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029)

摘要: 肠易激综合征(IBS)患者肠内存在免疫屏障异常, 进而导致机械屏障异常, 而 IBS 患者也存在紧密连接蛋白(TJs)调节的肠上皮机械屏障的异常。TJs 属于跨膜蛋白, 可通过直接和间接影响其信号通路而改变其的结构和功能, 其中内源性细胞因子是其主要影响因素。植物药可通过直接和间接作用影响 TJs 的结构和功能, 改善肠上皮屏障的完整性, 为 IBS 的治疗提供了研究思路。

关键词: 肠易激综合征; 上皮屏障; 紧密连接蛋白; 植物药

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)04-0519-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.032

Research Progress in Intervention of Intestinal Epithelial Function of Irritable Bowel Syndrome Patients by Herbal Medicine

LIU Lina, SUN Zhiguang, YAN Jing (The Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Institute of First Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029 Jiangsu, China)

Abstract: Patients with irritable bowel syndrome(IBM) have abnormal enteral immune barrier, which further leads to mechanical barrier dysfunction. IBM patients also have abnormal intestinal epithelial mechanical barrier dysfunction regulated by tight junction protein (TJs). TJs belong to the transmembrane protein family. Their structure and function can be changed by direct or indirect effects on related signaling pathways, among which endogenous cytokines are the major influencing factors. Herbal medicines can affect the structure and function of TJs through direct and indirect effects, and improve the intestinal epithelial barrier integrity, which provides novel research ideas for the treatment of IBM.

Keywords: Irritable bowel syndrome; Epithelial barrier; Tight junction proteins; Medicinal plants

紧密连接蛋白(tight junction proteins, TJs)是多种蛋白质组成的结构复杂的跨膜蛋白^[1], 与肌动蛋白微丝相接, 通过比邻连接肌动-肌球蛋白环的收缩过程调节 TJs 的结构和旁细胞的通透性。肠上皮旁细胞间隙通过 TJs 形成管腔内相邻上皮细胞的环周闭锁, 是上皮旁细胞通透性(paracellular permeability, PP)的重要限速调节因素。TJs 包含 occludin、claudin 家族、tricellulin 和黏附分子 JAM 等 50 种蛋白, TJs 相互相连形成支架, 并与肌动蛋白微丝相接, 细胞内肌动-肌球蛋白环收缩, 则 TJs 间隙增大, 结肠上皮旁细胞通透性增加, 反之 TJs 间隙减小, 结肠上皮旁细胞通透性减小^[2]。肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBM)的内脏痛觉过敏反应可能与肠道低度炎症^[3]引起

的脑肠轴异常有关。同时, 多项研究证实 IBM 等肠功能性疾病患者存在肠壁通透性增加, 肠屏障功能受损, 且 TJs 在基因和蛋白水平表达异常。目前西药中除了肠道益生菌可通过增强 TJs 功能降低肠通透性外, 尚无针对肠屏障的特效药, 而植物药对上皮屏障在多个通道和多个途径有保护作用, 为 IBM 的治疗提供广泛的前景。

1 IBM 肠屏障功能与 TJs 关系

IBM 患者肠道内存在机械屏障功能异常。Dunlop SP 等^[4]给患者口服 ⁵¹Cr-EDTA 后收集 24 h 尿液, 测 EDTA 排放率。结果发现, 与健康者相比, 腹泻型和便秘型 IBM 患者均存在全肠道的通透性增加。Spiller

收稿日期: 2013-10-22

作者简介: 刘丽娜, 女, 博士, 讲师, 主治医师, 研究方向: 胃肠动力疾病及肝病的机制和防治。Email: lina_liu606@126.com。通讯作者: 孙志广, 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 肠易激综合征及胃食管反流病的机制和防治, Email: pr_zhiguangsun@163.com。

基金项目: 江苏省中医药局科技项目 (LZ11202); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20140959)。

RC 等^[5]用乳果糖 / 甘露醇法测定肠道通透性, 亦发现与正常人比较, 感染后 IBS (Post infectious irritable bowel syndrome, PI-IBS) 和非感染后 IBS (Non-infected irritable bowel syndrome) 患者的肠黏膜通透性均增加。而孔武明等^[6]用超微电镜也观察到腹泻型 IBS 患者末端回肠和结肠上皮细胞旁的 TJs 间隙增宽, 开放频率增强, 示踪剂有一定外渗现象。进一步发现^[7], 便秘型 IBS 患者小肠和结肠黏膜的 TJs 中的 claudin-1, claudin-4 蛋白含量明显升高, 而腹泻型患者则下降, IBS 患者的 TJs 表达存在异常, 并伴有上皮机械屏障功能异常, 即 IBS 存在不正常的“漏”上皮屏障, 导致肠腔黏膜下的抗原暴露, 进一步引发免疫异常, 说明 TJs 在维持上皮黏膜组织稳态中起关键作用。

IBS 患者肠内免疫屏障异常导致机械屏障异常。Spiller RC 等^[8]发现 PI-IBS 患者上皮和固有层内 T 淋巴细胞、钙卫蛋白活性巨噬细胞等都有增高的趋势, 存在低水平的免疫激活和肠内分泌异常, 且 IBS 患者结肠内 T 淋巴细胞群 CD3⁺T、CD4⁺T 和 CD8⁺T 等的免疫应答增强, 进一步激活 B 淋巴细胞和单核巨噬细胞等免疫细胞, 固有层 T 淋巴细胞相关细胞因子如 IL-8、IL-6、IFN- γ 和 TNF- α 发生异常变化^[8]。在动物实验^[9]中也证明, 持续压力可导致动物结肠内 CD4⁺/CD8⁺ 细胞增多, 伴有 IFN- γ 过表达并引发结肠黏膜上皮细胞功能改变, 并可直接调控 TJS 表达, 引起上皮通透性改变, 调控 TJs 表达。将 IBS 患者结肠分泌的异常免疫调节物质作用于小鼠, 不仅引发其痛觉过敏, 还引发上皮屏障功能异常^[10]。体外培养的 IBS 患者结肠黏膜细胞分泌的上清液作用于单层上皮细胞 Caco-2 后, TJS 中的 ZO-1 mRNA 表达下降, 跨上皮抵抗 (transepithelial resistance, TER) 减低。以上都揭示了 IBS 肠内免疫紊乱亦可导致上皮机械屏障功能障碍^[11]。

2 TJs 功能与状态的调节因素

TJs 结构的组装、分解和维护受到各种病理和生理刺激的影响, 其中许多信号通路参与 TJs 的调控, 其跨膜蛋白和肌球蛋白环相互作用并被蛋白激酶 C (protein-kinase C, PKC)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK)、肌球蛋白轻链激酶 (myosin light chain kinase, MLCK) 和 Rho 家族小 GTP 酶 (Rho family of small GTPases) 等蛋白调控, 且 TJs 的磷酸化直接影响上皮功能。研究^[12]发现犬上皮单层细胞的 ZO-1 未磷酸化时的跨上皮抵抗较高, 磷酸化后则跨上皮抵抗降低; 但磷酸化 claudin 蛋白既可增加也可降低 TJs 的通透性^[13]。一方面, 肌

球蛋白轻链激酶可调控肌球蛋白 II 调控轻链 (myosin II regulatory light chain, MLC) 的磷酸化, 诱导完全分化的单层上皮细胞的肌动肌球蛋白环的收缩, 增加 TJs 通透性, 而抑制肌球蛋白轻链激酶则降低 TJS 通透性; 另一方面, Rho 家族小 GTP 酶调控 TJS 结构和功能却较复杂, 效应取决于不同 Rho 酶系 (Rho Kinases, ROCK) 之间相互作用。即可通过失活 Rho 酶导致 ZO-1 和 occludin 远离细胞膜, 增加跨上皮抵抗^[14], 又可以增加磷酸化肌球蛋白 II 调控轻链, 诱导肌动肌球蛋白环的收缩, 进而增加膜表面 TJS 的分解^[15]。肠上皮细胞特异性的 PKC 亚型可增加或降低肠单层上皮细胞的跨上皮抵抗, 后者与免疫微生物调节有关的 Toll 样受体 2 (Toll-like receptor 2, TLR2) 信号通路关联^[16], 刺激 TLR2 产生 PKC α 和 PKC δ 的激活, 并导致 ZO-1 重新分布, 进而增加跨上皮抵抗。而表皮生长因子通过 MAPK 信号通路, 保护过氧化氢对 TJs 的损伤^[17]。而属于 MAPK 的一组细胞外信号调控酶 (Extracellular signal regulated kinases, ERK) 可直接作用于 occludin 的 C 末端, 保护 TJs 免受过氧化氢的破坏。

内源性细胞因子亦可影响 TJs 的信号通路, 从而影响其功能和结构。在体外模型系统中, TNF- α 已被证明可直接损害多种上皮细胞和血管内皮细胞株的 TJs 功能^[18], 且 TNF- α 对肠上皮 Caco-2 细胞渗透存在滞后效应, 即处理 24 h 后细胞对小分子物质通量增加, 而处理 48 h 后跨上皮抵抗才发生改变。TNF- α 可启动 NF- κ B 对肌球蛋白轻链激酶的转录^[19], 增加上皮屏障通透性, 且与肌球蛋白轻链激酶蛋白表达和肌球蛋白 II 调控轻链的磷酸化存在直接的对应关系^[20], 即 TNF- α 可能通过增强肌动蛋白收缩而增加上皮的通透性。IFN- γ 属于 1 型辅助性 T 细胞 (helper T cell 1, Th1) 分泌的促炎性细胞因子, 它可增加肌动肌球蛋白收缩, 并促进 TJs 的胞吞作用, 进而胞外表达下降^[21]。IFN- γ 处理后的上皮可上调 GTP 酶依赖的肌动蛋白重组调节器 RhoA 水平, 并增加 Rho 激酶的表达, 依次磷酸化并激活肌球蛋白 II 调控轻链^[22]。研究^[23]还发现, TNF- α 和 IFN- γ 共同处理后, 气管上皮细胞的 TJs 如 JAM-4, claudin-4 和 claudin-5 转入胞质重新定位, 而肠上皮细胞 TJs 中的 occludin 和 JAM 在膜表面表达减少^[24], 且两者尽管对 TJs 的胞吞作用不明显, 但其肌球蛋白轻链激酶水平上调, 且影响的上皮内肌球蛋白轻链激酶基因转录也上调^[25]。总之, IFN- γ 和 TNF- α 可各自通过独立信号通路最终交集至肌球蛋白 II 调控轻链磷酸化的通路。

3 植物药对上皮屏障及 TJs 的作用

Obara K 等^[26]发现绿茶多酚中的表没食子儿茶素没食子酸酯 (Epigallocatechin gallate, EGCG) 可通过激活 PKC δ 诱导蛋白磷酸化蛋白磷酸酶抑制剂的蛋白磷酸化, 并反过来激活 PKC δ 抑制磷酸化的蛋白磷酸酶抑制剂蛋白, 进而抑制肌球蛋白 II 调控轻链磷酸化。LEE IA 等^[27]发现用人参皂苷 Re 灌胃能显著抑制三硝基苯磺酸致结肠炎小鼠全身炎症反应以及 IL-1 β 和 TNF- α 的表达, 并逆转模型小鼠结肠上皮已下调的 ZO-1, claudin-1 和 occludin 的 mRNA 表达水平。异黄酮染料木黄酮可抑制 TNF- α 诱导的结肠细胞系 HT-29/B6 细胞的跨上皮抵抗水平下降, 但它本身不影响跨上皮抵抗^[28]。上述植物单体通过改善肠上皮屏障的免疫异常而间接改善 TJs 的功能状态, 增强上皮屏障功能。推测可能通过此种间接作用对 IBS 的轻度炎症上皮有改善作用。

植物单体还可调节上皮信号通路直接对肠屏障有改善作用。Suzuki T^[29]等证实槲皮素可通过抑制 PKC δ 活性而直接增加肠上皮 ZO-2, claudin-1 和 occludin 的磷酸化, 并引起肌球蛋白重新膜定位, 增强上皮屏障功能。黄芩苷可降低体外 Balb/c 小鼠分离的脑微血管内皮细胞缺血模型中的屏障的通透性, 并通过降低 PKC 水平, 促进 claudin-5 和 ZO-1 的蛋白表达和基因转录水平^[30]。薯蓣碱 100 mg $\cdot$ kg⁻¹ 孵育 8 h 后, 尘螨损伤的人类 A549 气道上皮细胞 ZO-1、E 钙粘蛋白(E-cadherin, EC)和桥粒斑蛋白 (desmoplakin, DP)表达缺失较模型组显著恢复, 但这些蛋白总量并无明显变化^[31]。小檗碱可抑制 TNF- α 诱导的 claudin-1 蛋白解离并上调 claudin-2 水平, 从而有对抗腹泻的作用, 且小檗碱是通过酪氨酸激酶介导的 PAKT 和 NF- κ B 途径而发挥作用的^[32]。所以这些植物单体为未来开发 IBS 的治疗药物提供潜在的可能。

中药对肠道亦有免疫调节作用, 从而间接影响肠上皮屏障功能。如发酵白术可通过抑制 NF- κ B 活性发挥抗 LPS 诱导的肠上皮的炎症过程^[33]; 广藿香提取物可降低缺血-再灌注模型动物血清升高的 TNF- α 水平, 维持肠上皮屏障的膜流动性^[34]。以大黄、厚朴为主的中药复方通颗粒可改善肝硬化患者血浆高内毒素水平, 增加肠道双歧杆菌数量, 从而增强其屏障功能、降低肠通透性^[35]。大黄、芒硝、枳实、厚朴等为主组成的大承气汤可降低 MODS 大鼠血中内毒素水平及肠组织中 TNF- α 的含量, 并降低肠黏膜通透性^[36]。健康 Wistar 大鼠饮用含量 0.1% 的葡萄籽提取物 21 d 后, 与对照组比较, 葡萄籽提取物显著增加其近端结肠 occludin 表达, 并降低粪便中

性粒细胞的蛋白质钙网蛋白, 说明葡萄籽提取物可维护和改善肠道屏障的完整性^[37]。苹果提取物可浓度依赖地增加 Caco-2 细胞的旁细胞跨上皮抵抗, 与增加 TJs 相关基因, 包括 claudin-4 表达增加有关^[38]。而笔者前期研究^[39]亦发现, 金荞麦提取物可降低 IBS 大鼠模型的内脏高敏感性和全肠道通透性, 缓解结肠炎症损伤并可上调降低的结肠上皮的 claudin-1、occludin、ZO-1 的 mRNA 表达, 并在体外 Caco-2 细胞上证实, 金荞麦可直接抑制上皮细胞 TJs 磷酸化通路, 并间接抑制细胞炎症过程, 增强 TJs 表达。

4 展望

IBS 的发病机制中有肠屏障内的轻微免疫紊乱与细胞因子异常, 通过系列信号通路影响机械屏障的 TJs 结构和功能, 最终导致肠黏膜屏障功能障碍, 细胞通透性增加, 肠腔外源性抗原进入, 引发黏膜下的免疫改变, 并引发内脏高敏感性变化和肠管运动的异常。天然植物药有治疗 IBS 特有优势, 可通过直接作用于信号通路或间接调节免疫系统, 使 TJs 重新分配和组合, 以增强肠机械屏障的完整性, 进一步减少肠黏膜下神经元等暴露引发的痛觉过敏, 从而改善 IBS 的症状。所以, 植物药在治疗 IBS 方面具有很大的潜力, 值得深入开展相关的研究。

参考文献:

- [1] Chiba H, Osanai M, Murata M, et al. Transmembrane proteins of tight junctions[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778(3): 588-600.
- [2] Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, et al. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components[J]. *J Nutr*, 2011, 141(5): 769-776.
- [3] Collins SM. Is the irritable gut an inflamed gut? [J]. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 1992, 192: 102-105.
- [4] Dunlop SP, Hebden J, Campbell E, et al. Abnormal intestinal permeability in subgroups of diarrhea-predominant irritable bowel syndromes[J]. *Am J Gastroenterol*, 2006, 101(6): 1288-1294.
- [5] Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome[J]. *Gut*, 2000, 47(6): 804-811.
- [6] 孔武明, 龚均, 董蕾, 等. 肠易激综合征患者肠道屏障—紧密连接改变的示踪电镜观察[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(8): 1167-1170, 1172.
- [7] 孔武明, 龚均, 董蕾, 等. 肠易激综合征患者肠黏膜紧密连接蛋白 claudin-1, -3, -4 表达改变的意义[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(9): 1345-1347.
- [8] Coeffier M, Gloro R, Boukhettala N, et al. Increased proteasome-mediated degradation of occludin in irritable bowel syndrome[J]. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105(5): 1181-1188.
- [9] Ferrier L, Mazelin L, Cenac N, et al. Stress-induced disruption of colonic epithelial barrier: role of interferon-gamma and myosin light

- chain kinase in mice[J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(3): 795–804.
- [10] Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, et al. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(3): 636–647.
- [11] Piche T, Barbara G, Aubert P, et al. Impaired intestinal barrier integrity in the colon of patients with irritable bowel syndrome; involvement of soluble mediators[J]. *Gut*, 2009, 58(2): 196–201.
- [12] Stevenson BR, Anderson JM, Braun ID, et al. Phosphorylation of the tight-junction protein ZO-1 in two strains of Madin-Darby canine kidney cells which differ in transepithelial resistance[J]. *Biochem J*, 1989, 263(2): 597–599.
- [13] Findley MK, Koval M. Regulation and roles for claudin-family tight junction proteins[J]. *IUBMB Life*, 2009, 61(4): 431–7.
- [14] Nusrat A, Giry M, Turner JR, et al. Rho protein regulates tight junctions and perijunctional actin organization in polarized epithelia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(23): 10629–10633.
- [15] Bruewer M, Hopkins AM, Hobert ME, et al. RhoA, Rac1, and Cdc42 exert distinct effects on epithelial barrier via selective structural and biochemical modulation of junctional proteins and F-actin[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(2): C327–335.
- [16] Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase C[J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(1): 224–238.
- [17] Plotnikov A, Zehorai E, Procaccia S, et al. The MAPK cascades; signaling components, nuclear roles and mechanisms of nuclear translocation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813 (9): 1619–1633.
- [18] Ma TY, Iwamoto GK, Hoa NT, et al. TNF- α -induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF- κ B activation[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 286 (3): G367–G376.
- [19] Ye D, Ma I, Ma TY. Molecular mechanism of tumor necrosis factor- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290(3): G496–G504.
- [20] McKenzie JA, Ridley AJ. Roles of Rho/ROCK and MLCK in TNF- α -induced changes in endothelial morphology and permeability[J]. *J Cell Physiol*, 2007, 213(1): 221–228.
- [21] Utech M, Ivanov AI, Samarin SN, et al. Mechanism of IFN- γ -induced endocytosis of tight junction proteins: myosin II-dependent vacuolarization of the apical plasma membrane[J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(10): 5040–5052.
- [22] Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton[J]. *Science*, 1998, 279(5350): 509–514.
- [23] Wang F, Graham WV, Wang Y, et al. Interferon- γ and tumor necrosis factor- α synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression[J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(2): 409–419.
- [24] Li Q, Zhang Q, Wang M, et al. Interferon- γ and tumor necrosis factor- α disrupt epithelial barrier function by altering lipid composition in membrane microdomains of tight junction [J]. *Clin Immunol*, 2008, 126(1): 67–80.
- [25] Graham WV, Wang F, Clayburgh DR, et al. Tumor necrosis factor-induced long myosin light chain kinase transcription is regulated by differentiation-dependent signaling events. Characterization of the human long myosin light chain kinase promoter [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(36): 26205–26215.
- [26] Obara K, Ukai K, Ishikawa T. Mechanism of potentiation by tea epigallocatechin of contraction in porcine coronary artery: the role of protein kinase C δ -mediated CPI-17 phosphorylation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 668(3): 414–418.
- [27] Lee IA, Hyam SR, Jang SE, et al. Ginsenoside Re ameliorates inflammation by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to TLR4 on macrophages[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(38): 9595–9602.
- [28] Schmitz H, Fromm M, Bentzel CJ, et al. Tumor necrosis factor- α (TNF α) regulates the epithelial barrier in the human intestinal cell line HT-29/B6 [J]. *J Cell Sci*, 1999, 112 (1): 137–146.
- [29] Suzuki T, Hara H. Quercetin enhances intestinal barrier function through the assembly of zonula [corrected] occludens-2, occludin, and claudin-1 and the expression of claudin-4 in Caco-2 cells[J]. *J Nutr*, 2009, 139(5): 965–974.
- [30] Zhu H, Wang Z, Xing Y, et al. Baicalin reduces the permeability of the blood-brain barrier during hypoxia in vitro by increasing the expression of tight junction proteins in brain microvascular endothelial cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(2): 714–720.
- [31] Fu LS, Ko YH, Lin KW, et al. Dioscorin protects tight junction protein expression in A549 human airway epithelium cells from dust mite damage[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2009, 42(6): 457–463.
- [32] Amasheh M, Fromm A, Krug SM, et al. TNF α -induced and berberine-antagonized tight junction barrier impairment via tyrosine kinase, Akt and NF κ B signaling[J]. *J Cell Sci*, 2010, 123 (23): 4145–4155.
- [33] Bose S, Kim H. Evaluation of in vitro anti-inflammatory activities and protective effect of fermented preparations of rhizoma atractylodis *Macrocephalae* on intestinal barrier function against lipopolysaccharide insult [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, doi: 10.1155/2013/363076.
- [34] 谢肄聪, 唐方. 广藿香对肢体缺血-再灌注大鼠肠上皮细胞膜流动性的保护作用[J]. *中国中西医结合杂志*, 2009, 29(7): 639–641.
- [35] 姜春燕, 王宝恩, 陈丹, 等. 中药复方通腑颗粒对失代偿期肝硬化患者肠黏膜屏障的保护作用[J]. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(9): 784–787.
- [36] 陈海龙, 吴咸中, 关凤林, 等. 医通里攻下法对多器官功能不全综合征时肠道屏障功能保护作用的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2000, 20(2): 120–122.
- [37] Goodrich KM, Fundaro G, Griffin LE, et al. Chronic administration of dietary grape seed extract increases colonic expression of gut tight junction protein occludin and reduces fecal calprotectin: a secondary analysis of healthy Wistar Furth rats[J]. *Nutr Res*, 2012, 32(10): 787–794.
- [38] Vreeburg RA, van Wezel EE, Ocana-Calahorra F, et al. Apple extract induces increased epithelial resistance and claudin 4 expression in Caco-2 cells[J]. *J Sci Food Agric*, 2012, 92(2): 439–444.
- [39] Liu L, Cai X, Yan J, et al. In vivo and in vitro antinociceptive effect of fagopyrum cymosum (trev.) meiss extracts: A possible action by recovering intestinal barrier dysfunction[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 983801.

(编辑: 梁进权)